

Different epigenetic mechanisms of ER implicated in the fate of fulvestrant-resistant breast cancer

著者	坪井 洸樹
号	88
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博（保）第33号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00126417

氏名	つばい こうき 坪井 洸樹
学位の種類	博士(保健学)
学位授与年月日	平成31年3月27日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程)保健学専攻
学位論文題目	Different epigenetic mechanisms of ER α implicated in the fate of fulvestrant-resistant breast cancer (乳癌の ER α 発現におけるエピゲノム制御機構の違いがフルベストラント耐性後の治療選択に影響する)
論文審査委員	主査 教授 林 慎一 教授 高橋 和広 教授 石田 孝宣

論文内容要旨

乳癌の約7割がエストロゲン受容体 α (ER α)陽性であり、エストロゲンやER α は乳癌の増殖進展に重要な役割を果たしている。そのためエストロゲン産生やER α の機能を阻害するホルモン療法が施行されており、優れた治療法として繁用されている。抗エストロゲン剤であるfulvestrantはER α の二量体形成を阻害し、分解を促進することでER α 依存的な増殖進展を阻害する強力なホルモン療法剤であり、閉経後再発乳癌におけるアロマターゼ阻害剤(AI)耐性後の治療薬としてのみならず、近年新たな閉経後再発乳癌の第1選択薬としても期待されている。それ故にfulvestrant耐性の問題は重要と考えるが、その機序は不明であり、また耐性後の治療についても明確な指針はなく、臨床上大きな課題となっている。

本研究ではfulvestrant耐性メカニズムの解明と耐性後の治療方法の基礎的検討のため、ER α 陽性乳癌細胞株(MCF-7、T-47D)よりfulvestrant耐性モデル乳癌細胞株(MFR、TFR)を樹立し、耐性前後や耐性株間での比較検討を行った。これに先立ち、fulvestrantの短期曝露がMCF-7、T-47DでのER α 発現にもたらす影響を確認したところ、mRNAレベルでの発現には影響せず、タンパク質レベルでの発現を抑制する事が明らかとなった。つぎに、fulvestrantの長期曝露によりfulvestrant耐性株を樹立した。これらの耐性株はER α のタンパク質・mRNAともに発現がほぼ消失しており、同時にエストロゲンやtamoxifenといった抗エストロゲン剤への感受性を喪失したことから、ER α の消失が耐性獲得の一因として疑われた。そのため本研究では、ER α の発現制御機構に注目し検討を行った。今回の検討では、ER α 遺伝子のエピゲノム状態変化に着目し、特に遺伝子発現を抑制するとされている遺伝子プロモーター領域のDNAメチル化状態を中心に解析を行った。その結果、MFR細胞においてER α 遺伝子のプロモーター領域においてメチル化頻度の亢進を認めたことから、MFR細胞においてはDNAメチル化によりER α 遺伝子発現が抑制されたことが示唆された一方、TFR細胞では有意な変化を認めなかった。ER α 発現はホルモン療法適応の指標であり、次治療の選択にも重要である。そこで次に、これら耐性株のER α の発現の可逆性について検討した。Fulvestrantを除いた培地で長期間培養を続けたところ、MFRにおいてはER α の発現回復は認めなかったが、TFRにおいて発現の回復を認めた。さらにエストロゲン・抗エストロゲン剤への感受性を検討したところ、TFRでは親株と同等の感受性を持つことがわかった。耐性株におけるER α 遺伝子の解析からそれぞれの細胞株においてエピゲノム制御機構に差があることがわかり、この差がER α 発現の可逆性に違いをもたらす可能性が示唆された。次に耐性獲得後の次治療を想定して、各種分子標的薬の効果を検討した。その結

(書式 1 2)

果 MFR においては HER / Src-Akt / MAPK 経路の活性化が認められ、これら経路の特異的阻害剤が効果的であることが明らかとなった。

以上の結果から、fulvestrant への耐性獲得機序は複数存在する可能性が示唆された。また、ERα 遺伝子発現制御における異なるエピゲノム制御機構の存在と、それに伴う ERα 発現の可逆性の違いにより fulvestrant 耐性後における最適な治療選択が異なる可能性があるため、ERα 遺伝子プロモーター領域のメチル化状態は fulvestrant 耐性後における次治療選択のための予測因子となる可能性が示唆された。

審 査 結 果 の 要 旨

博士論文題目 Different epigenetic mechanisms of ER α implicated in the fate of fulvestrant-resistant breast cancer (乳癌の ER α 発現におけるエピゲノム制御機構の違いがフルベストラント耐性後の治療選択に影響する)

所属専攻・分野名 保健学専攻 ・分子機能解析学 分野

学籍番号 B6MD4002 氏名 坪井 洸樹

乳癌の7割がエストロゲン受容体 α (ER α)陽性であり、増殖進展にエストロゲンやER α が深く関与するため、その治療にはホルモン療法が施行されている。近年、閉経後進行再発乳癌に対するホルモン療法の第1選択薬としてfulvestrantが認可され、高い効果を期待されているが、同時に耐性化が問題となっており、耐性機序の解明や次治療の検討が急がれている。本論文ではfulvestrant耐性モデルの樹立ならびに耐性機序の解明を行うことで、耐性機序の一端を明らかにすると共に次治療の基礎的検討を目的としている。

本論文では、代表的なER α 陽性乳癌細胞株(MCF-7、T-47D)よりfulvestrant耐性モデル乳癌細胞株(MFR、TFR)を樹立し、耐性前後や耐性株間での比較検討を行っている。その結果、これらの耐性株はERの消失が耐性獲得の一因であることを明らかにした。そのため本論文ではER α のエピゲノムによる発現制御機構に注目し検討を行っている。初めに、MFRにおいてER α 遺伝子のプロモーター領域においてメチル化頻度の亢進を認め、MFRにおいてはDNAメチル化によりER α 遺伝子発現が抑制されたことを発見し、一方で、TFRはDNAメチル化以外の要因によることを明らかにした。次にER発現はホルモン療法適応の指標であり、次治療の選択にも重要であることから、これら耐性株のERの発現の可逆性について検討を行った。その結果、樹立した2つの耐性株においてER α 発現およびホルモン療法感受性の可逆性に違いがあることを明らかにし、その原因が細胞株におけるエピゲノム制御機構の差である可能性を示唆した。最後に耐性獲得後の次治療を想定して各種分子標的薬の効果を検討しており、特にMFR対し効果的な阻害薬を発見するに至った。

結論として本論文は、fulvestrantへの耐性獲得機序は複数存在することを示唆し、また、ER α 遺伝子発現制御における異なるエピゲノム制御機構の存在と、それに伴うER α 発現の可逆性の違いによりfulvestrant耐性後における最適な治療選択が異なる可能性があることを明らかにした。乳癌の治療選択においてER α 遺伝子のエピゲノム状態の検査が、耐性後における次治療選択のための重要な指標となり得ることを示す重要な研究と考える。

よって、本論文は博士(保健学)の学位論文として合格と認める。